

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-277269

(43)Date of publication of application : 02.10.2003

(51)Int.Cl.

A61K 31/575

A61K 35/78

A61P 31/12

A61P 35/00

C07J 9/00

(21)Application number : 2002-078753

(71)Applicant : UNIV NIHON

(22)Date of filing : 20.03.2002

(72)Inventor : AKIHISA TOSHIHIRO
TOKUDA HARUKUNI
UKIYA MOTOHIKO
NISHINO HOYOKU
KIMURA YUMIKO

(54) CARCINOGENESIS PREVENTING AGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a carcinogenesis preventing agent having a sufficient effect for preventing carcinogenesis.

SOLUTION: The carcinogenesis preventing agent having an EBV (Epstein-Barr virus) activation suppressing effect contains preferably a cycloartane-type triterpene obtained by modifying cycloartenol ferulate being a γ -oryzanol component obtained from rice bran.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-277269

(P2003-277269A)

(43)公開日 平成15年10月2日(2003.10.2)

(51)Int.Cl.	識別記号	F I	チート(参考)
A 6 1 K 31/575		A 6 1 K 31/575	4 C 0 8 6
35/78		35/78	U 4 C 0 8 8
A 6 1 P 31/12		A 6 1 P 31/12	4 C 0 9 1
35/00		35/00	
C 0 7 J 9/00		C 0 7 J 9/00	
審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 4 頁)			

(21)出願番号 特願2002-78753(P2002-78753)

(22)出願日 平成14年3月20日(2002.3.20)

(71)出願人 899000057

学校法人日本大学

東京都千代田区九段南四丁目8番24号

(72)発明者 秋久 俊博

東京都千代田区九段南四丁目8番24号 学

校法人 日本大学内

(72)発明者 徳田 春邦

京都府京都市左京区下鴨北園町3番地

(74)代理人 100066692

弁理士 浅村 皓 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 発癌予防剤

(57)【要約】 (修正有)

【課題】 発癌予防に関して十分な効果を有する発癌予防剤を提供すること。

【解決手段】 好ましくは米糠から得られるγ-オリザノール成分であるシクロアルテノールフェルレートを変性したシクロアルタン型トリテルペンを含有することを特徴とするEBV(エプスタイン・パール・ウイルス)活性化抑制効果を有する発癌予防剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 シクロアルタン型トリテルペンを含有することを特徴とする発癌予防剤。

【請求項2】 シクロアルタン型トリテルペンがヒドロキシ化された側鎖をもつことを特徴とする請求項1に記載の発癌予防剤。

【請求項3】 EBV（エプスタイン・バー・ウイルス）活性化抑制効果を有することを特徴とする請求項1又は2に記載の発癌予防剤。

【請求項4】 米糠を処理して得られることを特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の発癌予防剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、発癌予防剤に関する。本発明はさらに詳細には、シクロアルタン型トリテルペンを含有する発癌予防剤に関する。本発明のシクロアルタン型トリテルペンは、好ましくは、米糠を処理して得られる。

【0002】

【従来の技術】発癌予防剤に関与するトリテルペン系化合物に関する先行文献としては、特開平9-25232号公報が知られている。

【0003】しかし特開平9-25232号公報は、具体的に発癌予防に関して十分な効果を有するトリテルペン系化合物を開示するものではない。ところが複雑な現代生活に伴って、安全性が高くかつ十分な効果を有する発癌予防剤は、強く求められている。

【0004】また、近年になってわが国において大腸癌の発生頻度が高まってきている。この原因として、西欧食の典型である高脂肪食が胆汁酸分泌の過剰、腸内細菌叢の変動等をもたらす結果、大腸癌が悪性化しやすい環境になるためと考えられる。米国ケロググ社の「オールブラン」という製品の広告にはすでに大腸癌を抑制する効果が記載されている。この効果は主原料である小麦フスマが、便秘の改善・有害物質の吸着等の作用を有するため、大腸に有害物質が接触するのを抑制することによりこれらの効果が期待されるものと考えられている。しかし、Jacob, L. R. は大腸癌を起こす化学物質を投与した動物に前述の小麦フスマを食餌とともに摂取させると、大腸癌の発生を促進したと報告している（Cancer Research, 43, 4057, 1983）。

【0005】このような食物繊維の特性に鑑みて、特開平5-112455号公報には、食物繊維の生理活性作用を用いた大腸癌抑制物質が提案されている。

【0006】特開平5-112455号公報では、大腸癌を起こす化学物質を投与した動物に上記食物繊維に含まれる水溶性多糖類を食餌とともに摂取させる実験を検討した結果、米糠由来のものを含まない水溶性多糖類は、大腸癌の発生を抑制する作用があることがわかったとさ

れている。さらに水溶性多糖類は、穀類、特にその糠、麩あるいは外皮を必要に応じて、n-ヘキサンのような有機溶媒で脱脂処理した後、水酸化カルシウム等のアルカリ溶液を加えて抽出することにより得ることができ、この抽出液を、遠心分離、限外濾過膜による濃縮・脱塩等の精製処理を行った後、噴霧乾燥あるいは凍結乾燥することにより、アラビノキシランを主成分とする水溶性多糖類が得られる。このようにして得られる水溶性多糖類は、無味であって、水溶性であるため、タブレット形態、ドリンク剤形態として摂取することができ、また、そのまま食物に混合して摂取してもよい。なお、この水溶性多糖類は、アラビノースとキシロースが結合した形態の多糖であるとされている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】発癌予防の大きなニーズとに鑑みて、安全で有効な発癌予防剤が得られないものかとの期待は大きい。そこで本発明の課題は、安全で有効な発癌予防剤を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記の課題を解決するものとして、米糠抽出物を有効成分とする新しい発癌プロモーション抑制剤を提供する。すなわち本発明は、発癌プロモーションの阻害についての本発明者らによる以下の検討を通じて完成されたものである。

【0009】本発明者らは、EBV（Epstein-Barr Virus、エプスタイン・バー・ウイルス）のゲノムを内臓するバーキット・リンパ腫由来の培養細胞であるRaji（ラジ）株において、EBV・ゲノムの発現を阻害する化合物の多くが、マウス皮膚発癌二段階実験において抗発癌プロモーターとして作用する点に注目した。そして、米糠抽出物からEBV・ゲノムの発現を阻害するウイルス・ゲノム不活性化物質を探索した。

【0010】EBV・ゲノムの発現阻害作用に着目したこの方法は、Raji株培養系に、発癌プロモーターであるTPA（テトラデカノールホルボールアセテート）と、活性発現のために相乗作用として働くn-酪酸、それに被検物質を加えて培養し、TPAにより活性化された細胞由来の抗体を用いる間接蛍光抗体法で検出する方法である。この方法は、迅速、かつ定量性に優れ、加えて、微量活性成分の検出が可能な点で優れた方法である。

【0011】

【発明の実施の形態】本発明において、シクロアルタン型トリテルペンは、米糠から得られるγ-オリザノール成分であるシクロアルテノールフェルレートを変性して製造する。

【0012】

【実施例】以下、本発明の実施例を示す。

【0013】活性試験法

抗発癌プロモーター活性の測定は、徳田らの方法〔キャンサー・レターズ40巻、309頁(1988)〕に準じて図1に示した手順に沿って測定することにより行った。すなわち、 $1 \times 10^5 / \text{ml}$ のRaji細胞に20 ng/ml (32 pmol)の濃度のTPAを加え、次いで、水又はエタノールとジメチルスルホキシドに溶解した所定量の被検物質を添加して、37℃で48時間培養した。培養終了後、EBV早期抗原の発現を上咽頭癌患者血清を用いた間接蛍光抗体法により検出した。TPAのみを加えた群(コントロール群)のEBV早期抗原発現率を100%として、被検物質添加群のEBV早期抗原発現率(%)を求め、次式により試料のEBV早期抗原発現阻害率(%)を算出した。

【数1】EBV早期抗原発現阻害率(%) = $100 - \text{被検物質添加群のEBV早期抗原発現率(%)}$

【0014】実施例1

シクロアルテノールフェルレート(1)(化学構造式は図2参照、以下、同様)及び24-メチレンシクロアルタノールフェルレート(2)は γ -オリザノールから、文献記載の方法(L. J. Goad, T. Akihisa, "Analysis of Sterols", Blackie Academic & Professional, ロンドン、292頁、1997年)により、分別再結晶法により調製した。シクロアルテノール(3)及び24-メチレンシクロアルタノール(4)は対応するフェルラ酸エステルのアルカリ加水分解(5%*

*水酸化カリウム・メタノール溶液;加熱還流;3時間)により調製した。

【0015】実施例2

(24R)-シクロアルト-25-エン-3 β , 25-ジオール(5)、(24R)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(6)、(24S)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(7)、及び(24S)-25-メトキシシクロアルタン-3 β , 24-ジオール(8)は、シクロアルテノール(3)から図2に示した手順により、24, 25-エポキシシクロアルタノールを中間体として、文献記載の方法(M. D. Grecaら、Phytochemistry、35巻、4号、1017-1022頁、1994年)で調製した。

【0016】実施例3

24-ヒドロキシシクロアルト-25-エン-3-オン(10)及びシクロアルト-25-エン-3-オン(11)は、シクロアルテノール(3)から、シクロアルテノン(9)と24, 25-エポキシシクロアルタノールを経由して、上記文献記載の方法で図2に示した手順により調製した。24-メチレンシクロアルタノール(4)のC-3位水酸基の酸化により調製した。EBV早期抗原発現阻害率(%)の結果を表1に示す。

【0017】

【表1】

シクロアルタン型トリテルペンのEBV早期抗原発現阻害率(%)

被検物質	被検物質濃度(モル/TPA)			
	1000	500	100	10
シクロアルテノールフェルレート(1)	90.3 (70)*	44.0	15.3	0
24-メチレンシクロアルタノールフェルレート(2)	82.4 (70)	45.3	18.0	0
シクロアルテノール(3)	100 (70)	74.2	30.1	8.5
24-メチレンシクロアルタノール(4)	100 (70)	76.8	33.3	8.6
(24R)-シクロアルト-25-エン-3 β , 24-ジオール(5)	100 (70)	85.0	42.2	15.6
(24R)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(6)	100 (70)	79.8	31.7	17.0
(24S)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(7)	100 (70)	83.2	40.0	16.6
(24S)-25-メトキシシクロアルタン-3 β , 24-ジオール(8)	100 (70)	69.3	25.5	4.1
シクロアルテノン(9)	97.7 (70)	75.4	28.7	7.4
24-ヒドロキシシクロアルト-25-エン-3-オン(10)	100 (70)	88.9	30.3	8.8
シクロアルト-25-エン-3, 24-ジオン(11)	100 (70)	75.3	27.7	2.2
24-メチレンシクロアルタノール(12)	98.9 (70)	73.8	28.5	3.9

*カッコ内数値:細胞生存率

【0018】

【発明の効果】表1に示したように、 γ -オリザノールの主成分であるシクロアルテノールフェルレート(1)及び24-メチレンシクロアルタノール(2)よりアルカリ加水分解により調製した遊離トリテルペンアルコール、即ちシクロアルテノール(3)及び24-メチレンシクロアルタノール(4)はフェルラ酸エステルよりも強いEBV早期抗原発現阻害率を示し、これらはTPAに対し1000モル濃度で、完全に発現を阻害した。さらに、シクロアルテノール(3)を出発物質として調製した(24R)-シクロアルト-25-エン-3 β , 25-ジオール(5)、(24R)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(6)、及び(24S)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(7)などの24-ヒドロキシー25-エン側鎖及び24, 25-ジヒドロキシ側鎖をもつシクロアルタン類はTPAに対し10倍モル濃度でも15~17%の高い阻害活性を示した。したがって、シクロアルタン型トリテルペン、特にヒドロキシル化された側鎖をもつものは発癌予防物質として期待できる化合物である。また、これらのいずれの化合物も、TPAに対し1000モル濃度においてもRaji細胞生存率が70%と高いことか

40 25-ジオール(5)、(24R)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(6)、及び(24S)-シクロアルタン-3 β , 24, 25-トリオール(7)などの24-ヒドロキシー25-エン側鎖及び24, 25-ジヒドロキシ側鎖をもつシクロアルタン類はTPAに対し10倍モル濃度でも15~17%の高い阻害活性を示した。したがって、シクロアルタン型トリテルペン、特にヒドロキシル化された側鎖をもつものは発癌予防物質として期待できる化合物である。また、これらのいずれの化合物も、TPAに対し1000モル濃度においてもRaji細胞生存率が70%と高いことか

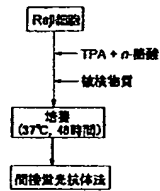
ら、これらの化合物は発癌予防物質として高い安全性を持つ。

【図面の簡単な説明】

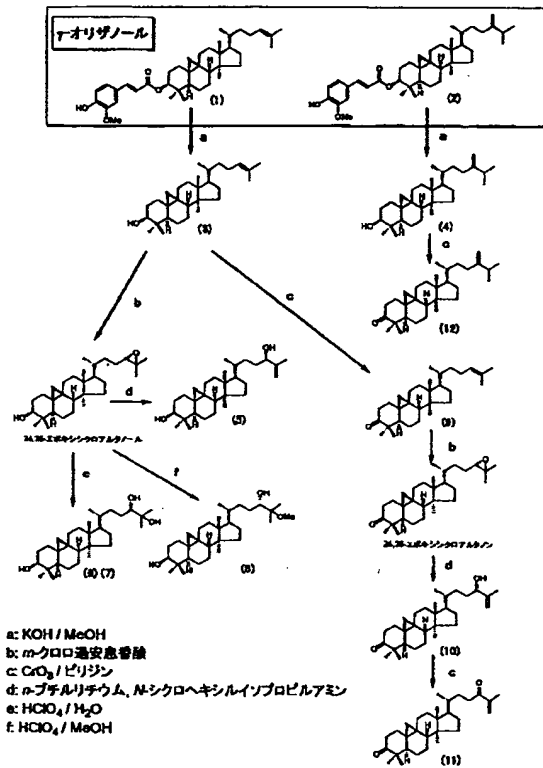
* 【図1】 抗発癌プロモーター活性の測定手順を示す。

* 【図2】 シクロアルテノールフェルレート (1) 等の化学構造式を示す。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(72) 発明者 浮谷 基彦
東京都千代田区九段南四丁目 8 番 24 号 学
校法人 日本大学内
(72) 発明者 西野 輔翼
大阪府枚方市牧野本町 1-25-2
(72) 発明者 木村 由美子
東京都千代田区九段南四丁目 8 番 24 号 学
校法人 日本大学内

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 EA19 MA01 NA14
ZB26 ZB33
4C088 AB74 AC04 NA14 ZB26
4C091 AA02 BB01 CC01 DD01 EE03
FF02 FF06 GG01 HH04 JJ04
KK01 LL01 MM01 NN01 PA02
PA05 PB05 QQ05 QQ15

This Page Blank (uspto)